



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Förekomst av specifika bakterier i färskfoder till hund

En undersökning av färskfoder innehållande kött och
slaktbiprodukter från idisslare tillgängligt på den svenska
marknaden

Josefin Hellgren

*Uppsala
2018*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:30*

Förekomst av specifika bakterier i färskfoder till hund

En undersökning av färskfoder innehållande kött och slaktbiprodukter från idisslare tillgängligt på den svenska marknaden

Presence of specific bacteria in raw food diets for dogs

An examination of raw food diets containing meat and offal from ruminants available on the Swedish market

Josefin Hellgren

Handledare: Ingrid Hansson, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Camilla Wikström, Avdelningen för mikrobiologi, Statens veterinärmedicinska anstalt

Biträdande handledare: Lise-Lotte Fernström, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Sofia Boqvist, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0830

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Delnummer i serie: Examensarbete 2018:30

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Färskfoder, hund, idisslare, Salmonella, Enterobacteriaceae, Campylobacter, Clostridium perfringens

Keywords: Raw food diet, dog, ruminants, Salmonella, Enterobacteriaceae, Campylobacter, Clostridium perfringens

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Färskfoder, foder som inte genomgått någon konservering innan kylning eller frysning, har på senare tid ökat i popularitet. Förespråkare menar att det är mer naturligt att utfodra sin hund med en diet bestående av råa ingredienser och de hävdar att det leder till en rad positiva effekter. Det råder dock delade meningar om fodrets för- och nackdelar. Tidigare studier har påvisat en rad potentiellt patogena bakterier i färskfoder och har visat att förekomsten av dessa är större i färskfoder jämfört med värmebehandlat foder. Färskfoder är också en riskfaktor för att hunden ska utsöndra zoonotiska bakterier i avföringen. Syftet med studien var att undersöka färskfoder innehållande kött och slaktbiprodukter från idisslare, avsett för hund, genom analys avseende förekomst av *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* och *Enterobacteriaceae*. Avsikten var att på så sätt kunna bedöma den hygieniska kvaliteten och risken att färskfoder skulle utgöra en källa för zoonotiska bakterier.

Färskfoder köptes från sju olika butiker i Uppsala- och Stockholmsregionen från nio olika tillverkare med råvaruursprung från Sverige, Norge, Finland, Storbritannien och Tyskland. Färskfodret som inkluderades i studien var fruset foder avsett för hundar och innehöll kött och/eller slaktbiprodukter från idisslare som en av ingredienserna. Totalt 30 prov analyserades gällande förekomst av *Enterobacteriaceae*, *C. perfringens*, *Campylobacter* spp. och *Salmonella* spp. enligt de standardiserade metoderna Nordisk Metodkommitté för Livsmedel (NMKL) och International Organization for Standardization (ISO).

Enterobacteriaceae påvisades i samtliga analyserade prov med en variation från log 1,6 Colony Forming Units (CFU)/gram till log 6,4 CFU/gram, med ett medelvärde på log 3,8 CFU/gram. *Clostridium perfringens* påvisades i åtta prov (27 %). Mängden bakterier varierade från log 0,8 CFU/gram till log 4,0 CFU/gram, med ett medelvärde på log 2,1 CFU/gram. *Salmonella* spp. isolerades från tre foderprov (10 %) med ursprung från Sverige och Tyskland. De typades *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Rissen, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium var. monofasisk och *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Leeuwarden. *Campylobacter coli* påvisades i ett prov med ursprung från Finland.

Resultatet i denna studie har belyst och bekräftat den mikrobiologiska risken som tidigare kunnat kopplas till färskfoder. Det är viktigt att känna till de potentiella riskerna för att förstå hur de kan minimeras. Fördelarna som sägs kunna uppnås med denna typ av utfodring förnekas inte, men vetenskapliga studier som bekräftar färskfodrets positiva effekter är begränsade. Ytterligare studier i ämnet behövs för att på så vis kunna bedöma om fördelarna överväger riskerna.

SUMMARY

Raw food diets, a type of animal feed that have not been preserved prior to freezing or cooling, have increased in popularity. The advocates mean that it is more natural to feed dogs diets containing raw ingredients only, compared with heat treated dog food. It has been claimed that this feeding regimen comes with a lot of positive effects, but the opinions in the subject differ. Previous studies have detected potential pathogenic bacteria in different raw food diets and they have also shown that the presence of these bacteria is greater in raw food diets compared to heat treated dog food. A raw food diet is also a risk factor for the dog to shed zoonotic bacteria in its feces. The aim of this studie was to investigate presence of selected bacteria in raw food diets for dogs, containing meat and offal from ruminants. The more specific aim was thus to investigate presence of *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* and *Enterobacteriaceae* to estimate the hygienic quality of raw dog food and the risk for the food to be a source of zoonotic bacteria.

Raw dog foods were bought from seven shops in the area of Uppsala and Stockholm, Sweden, and were produced by nine different manufacturers. Fresh, frozen feed containing meat and/or offal from ruminants intended for dogs were included in the study. The meat in the feed originated from Sweden, Norway, Great Britain, Finland and Germany. A total of 30 samples were analysed regarding the presence of *Enterobacteriaceae*, *C. perfringens*, *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. according to the standardized methods Nordisk Metodkommitté för Livsmedel (NMKL) and International Organization for Standardization (ISO).

Enterobacteriaceae was present in all samples in number of log 1,6 Colony Forming Units (CFU)/gram up to log 6,4 CFU/gram, with the mean value of 3,8 CFU/gram. *Clostridium perfringens* was found in eight specimens (27 %). The quantity of *C. perfringens* ranged from log 0,8 CFU/gram to log 4,0 CFU/gram, with the average of log 2,1 CFU/gram. *Salmonella* spp. was found in three samples (10 %) with the origin of Sweden and Germany. They were identified as *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Rissen, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium var. monophasic and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Leeuwarden. *Campylobacter coli* was identified in one sample with the origin of Finland.

The result in this studie has confirmed the microbiological risk that previously has been established with raw food diets. It is important to be aware of the risks to be able to minimize them. The benefits that has been proposed with this type of dog food has not been investigated in this studie, but scientific studies that confirm these positive effects are limited. Further studies in the subject are needed to be able to judge wether or not the benefits outweigh the risks.

INNEHÅLL

Förkortningar.....	1
Inledning.....	2
Litteraturöversikt.....	3
Vad är färskfoder?	3
Den mikrobiologiska risken	3
<i>Enterobacteriaceae</i>	4
<i>Salmonella</i>	5
<i>Campylobacter</i>	6
<i>Clostridium perfringens</i>	7
Lagstiftning	8
Material och metoder.....	9
Analysmetoder	9
Maldi-Tof	11
Resultat.....	11
<i>Enterobacteriaceae</i>	12
<i>Salmonella</i>	12
<i>Campylobacter</i>	13
<i>Clostridium perfringens</i>	13
Diskussion	14
<i>Enterobacteriaceae</i>	14
<i>Salmonella</i>	14
<i>Campylobacter</i>	15
<i>Clostridium perfringens</i>	16
Riskbaserad hantering	16
Begränsningar.....	17
Konklusion	18
Referenser.....	19

FÖRKORTNINGAR

BARF	Biologically Appropriate Raw Food, Bones and Raw food, Biologiskt anpassad rå föda
BG	Brilliantgrön
BIOHAZ	EFSA Panel on Biological Hazards
BPV	Buffrat peptonvatten
CFU	Colony forming units
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
EHEC	Enterohemorrhagisk <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvasiva <i>Echerichia coli</i>
EPEC	Enteropatogena <i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended spectrum β -lactamase
ETEC	Enterotoxiska <i>Escherichia coli</i>
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points, Riskanalys och kritiska styrpunkter
ISO	International Organization for Standardization
Maldi-Tof	Matrix – Assisted Laser Desportion/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry
MSRV	Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis
mCCDA	modified Charcoal-Cefoperazone Deoxycholate Agar
NMKL	Nordisk Metodkommitté för Livsmedel
SJV	Statens jordbruksverk
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
SVA	Statens Veterinärmedicinska Anstalt
TSC	Tryptos Sulfit Cykloserinagar
VRGG	Violettrött gallglukosagar
VTEC	Verotoxin producerande <i>Escherichia coli</i>
XLD	Xylos lysindeoxycholatar

INLEDNING

Under mitten av 1800-talet började kommersiellt djurfoder till hundar och katter produceras. Idag finns flera olika typer av foder tillgängligt på marknaden, i olika former och för olika ändamål. Det mest förekommande kommersiella djurfodret är torrfoder; en blandning av ingredienser som sedan bakas i hög temperatur (Case *et al.*, 2010). På senare tid har dock intresset för alternativa dieter ökat, där ibland intresset för färskfoderdieter. Flertalet förespråkare framförde under slutet av 1900-talet sina teorier och positiva erfarenheter av att utfodra sina hundar med en diet bestående av råa ingredienser. Dessa dieter kan vara hemlagade eller kommersiella (Freeman *et al.*, 2013) och har inte genomgått någon form av konservering innan kylning eller frysning. Att utfodra sin hund med färskfoder ska enligt förespråkarna vara mer naturligt och leda till en rad positiva hälsoeffekter (Billinghurst, 1993). Det har dock skapats debatt i ämnet eftersom det råder delade meningar om fodrets för- och nackdelar. En av de risker som kopplas till färskfoder är den mikrobiologiska risken, eftersom färskfoder innehåller kött och slaktbiprodukter som inte genomgått någon typ av behandling för att minska eller eliminera förekomsten av eventuella kontaminanter (Freeman *et al.*, 2013).

Det finns dokumenterade fall där torrfoder gett upphov till salmonellos hos både hundar (Selmi *et al.*, 2011) och människor (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2008). Hundtugg och hundgodis tillverkade av animaliska produkter, så som grisöron och torkat nötkött, har också kunnat kopplas till sjukdom på människa (Clark *et al.*, 2001; Pitout *et al.*, 2003). I studier har det konstaterats att förekomsten av bakterier i färskfoder är större jämfört med värmebehandlat foder (Joffe & Schlesinger, 2002; Strohmeyer *et al.*, 2006; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014) och att utfodring med färskfoder eller rått kött är en riskfaktor för att hunden ska utsöndra vissa zoonotiska patogener i avföringen (Stone *et al.*, 1993; Joffe & Schlesinger, 2002; Morley *et al.*, 2006; Lefebvre *et al.*, 2008; Leonard *et al.*, 2011; Bojanić *et al.*, 2017). Det är därför av stort intresse för både veterinärmedicinen och folkhälsan att undersöka bakterieförekomsten i färskfoder. Potentiellt patogena bakterier så som *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli* och *Clostridium* spp. har påvisats i tidigare studier (Weese *et al.*, 2005; Strohmeyer *et al.*, 2006; Finley *et al.*, 2008; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014; Bojanić *et al.*, 2017; Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). En tidigare publicerad studie har undersökt färskfoder på den svenska marknaden avseende förekomsten av ESBL-bildande *E. coli* (Nilsson, 2015).

Syftet med studien var att undersöka förekomsten av vissa specifika bakterier i färskfoder innehållande kött och slaktbiprodukter från idisslare, avsett för hund. Färskfodret analyserades avseende förekomst av *Campylobacter* spp. och *Salmonella* spp. för att utvärdera om det kunde vara en källa för zoonotiska bakterier. För att bedöma fodrets hygieniska kvalitet gjordes beräkningar av antalet *Clostridium perfringens* och bakterier tillhörande familjen *Enterobacteriaceae*.

LITTERATURÖVERSIKT

Vad är färskfoder?

Färskfoder finns definierat i Kommissionens förordning (EU) nr 142/2011 av den 25 februari 2011 om genomförande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om genomförande av rådets direktiv 97/78/EG vad gäller vissa prover och produkter som enligt det direktivet är undantagna från veterinärkontroller vid gränsen¹ som ”sällskapsdjursfoder som innehåller visst kategori 3-material som inte har genomgått någon annan typ av konservering än kylning eller frysning”. Det kategori 3-material som är godkänt att användas till färskt sällskapsdjursfoder finns angivet i denna förordning. Där innefattas hela eller delar av slaktkroppar som bedömts tjänliga som livsmedel och som av andra skäl inte ska användas som livsmedel. Slaktkroppar som bedömts otjänliga som livsmedel får också användas, såvida de inte utgör fara för spridning av sjukdom.

Färskfoderdieter kan delas in i två kategorier; hemlagade eller kommersiella (Freeman *et al.*, 2013). Några av de mest populära hemlagade dieterna är; Bones and Raw food även kallat Biological Appropriate Raw Food (BARF), the Volhard Diet och the Ultimate Diet. Gemensamt har de grundidén att en måltid ska komponeras av råa ingredienser så som kött, inälvor, ben, grönsaker, ägg, mejeriprodukter och frukt (Freeman & Michel, 2001). I de kommersiellt tillgängliga färskfodren är de råa ingredienserna redan blandade. De säljs antingen färskt, fruset eller frystorkat, som balanserade helfoder alternativt som komplement (Freeman *et al.*, 2013).

Flertalet förespråkare har framfört sina teorier om hundutfodring i böcker som kom ut under slutet av 1900-talet. Deras gemensamma grundidé är att man ska få en friskare hund genom att undvika kommersiellt hundfoder och istället ge sin hund en måltid komponerad av råa ingredienser (Billinghurst, 1993; Schultze, 2009; Volhard, 2017). De menar att det är mer naturligt för en hund att äta rå föda eftersom dess förfäder, vargen, gjorde det. Genom att ge rå föda undviks tillsatser, främmande ämnen som bildas vid upphettning och att näringsämnen förstörs vid värmebehandling. På så vis ska hunden bland annat få bättre tandstatus, mindre problem med inflammerade analsäckar, ett starkare immunförsvar och mindre mängd avföring. De menar även att en mer varierad föda skulle ge bättre normalflora i mag-tarmkanalen. Nackdelen med ett foder som inte är värmebehandlat är dock att det blir svårare att förvara och har kortare hållbarhet. Dessutom ökar den mikrobiologiska risken eftersom eventuell kontamination av bakterier eller parasiter inte avdödas (Billinghurst, 1993).

Den mikrobiologiska risken

I tidigare studier då färskfoder analyserats för förekomst av bakterier har *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria* spp., *E. coli* och *Clostridium* spp. påvisats (Weese *et al.*, 2005; Strohmeyer *et al.*, 2006; Finley *et al.*, 2008; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014; Nilsson, 2015; Bojanić *et al.*, 2017; Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). Då värmebehandlade foder använts som kontrollgrupp har en skillnad i bakterieförekomst setts. *Salmonella* spp.

¹ EUT L 54, 26.2.2011, s. 19, 82, CELEX:32011R0142

och *Listeria* spp. har i större utsträckning isolerats från de råa produkterna (Joffe & Schlesinger, 2002; Strohmeyer *et al.*, 2006; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014). Att utfodra sin hund med färskfoder eller rått kött har även visat sig vara en riskfaktor för att hunden ska utsöndra vissa zoonotiska bakterier i avföringen. Denna koppling har setts gällande *Salmonella* spp. (Stone *et al.*, 1993; Joffe & Schlesinger, 2002; Morley *et al.*, 2006; Lefebvre *et al.*, 2008; Leonard *et al.*, 2011), *Campylobacter* spp. (Bojanić *et al.*, 2017) och risken att utsöndra resistentastammar av *E. coli* (Lefebvre *et al.*, 2008; Baede *et al.*, 2015; Naziri *et al.*, 2016).

Enterobacteriaceae

Bakterierna tillhörande familjen *Enterobacteriaceae* är normalt förekommande i mag-tarmkanalen på djur och människor. De finns på växter, i mark, vatten och miljön. De är Gramnegativa, stavformiga bakterier som är fakultativt anaeroba. Vissa bakterier i gruppen är även termotoleranta och kan växa i upp till 44 °C. I familjen *Enterobacteriaceae* finns omkring 40 genus och dessa kan delas in i de tre grupperna opportunist, apatogena och patogena utifrån deras förmåga att ge upphov till sjukdom. Till opportunist räknas bland annat *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp. och *Proteus* spp. Till de patogena räknas *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. och patogena stammar av *E. coli* (Quinn *et al.*, 2011). Förekomst av dessa bakterier i en produkt används som indikation på varans hygien, men en liten mängd kan dock förväntas i rått kött (Ray, 2001). Dessa bakterier har även en förmåga att etablera sig i lokaler och på utrustning där livsmedel och foder produceras och kontaminera produkter som tillverkas där (Montville & Matthews, 2005).

Resistens

Bakterier i denna familj kan bära på gener kodande för enzym som kan bryta ner antibiotika inom gruppen betalaktamer, så kallade Extended spectrum β -lactamases (ESBL). Till gruppen betalaktamer hör Penicilliner och Cefalosporiner, men ESBL-producerande bakterier är ofta resistentast även mot andra antimikrobiella substanser. Enzymerna är framför allt förekommande hos bakterierna *E. coli* och *Klebsiella* spp. Generna kodande för dessa enzym är oftast lokaliserade till plasmiden, vilket gör att de är biologiskt överförbara (EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), 2011). Infektioner med ESBL-bildande bakterier leder ofta till behandlingssvikt av vald antibiotika och på grund av det, ökad dödlighet (Schwaber & Carmeli, 2007). Hos djur i Sverige är förekomsten av ESBL ovanlig. Undantaget är dock kyckling där det under 2016 påvisades ESBL i omkring 40 % av prover tagna på kyckling respektive svenskt kycklingkött (Swedres-Swarm, 2016). Under samma år rapporterades 10 659 fall på människor i Sverige och antalet fall ökar för varje år (Folkhälsomyndigheten, 2016b). Knappt fem procent av friska människor i Sverige bedöms vara bärare av ESBL (Egervärn *et al.*, 2014). Hundar kan också vara asymtomatiska bärare (Gandolfi-Decristophoris *et al.*, 2013) och riskfaktorerna är tidigare antibiotikabehandling (Gandolfi-Decristophoris *et al.*, 2013; Belas *et al.*, 2014; Wedley *et al.*, 2017) och utfodring med rått kött (Baede *et al.*, 2015; Naziri *et al.*, 2016; Wedley *et al.*, 2017). Huruvida resistentastammar av *E. coli* kan överföras mellan hund och ägare har studerats och resultaten tyder på att det sker i liten utsträckning (Ljungquist *et al.*, 2016; Naziri *et al.*, 2016). Fall av ESBL på människa är anmälningspliktig (Smittskyddslagen [2004:168]) och på djur är typen ESBL_{carba}

anmälningspliktig (Föreskrifter om ändring i Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2012:24) om anmälningspliktiga djursjukdomar och smittämnen [2013:23]).

Escherichia coli

Escherichia coli tillhör normalfloran i mag-tarmkanalen hos alla däggdjur (Quinn *et al.*, 2011) och kan växa och föröka sig i temperaturer mellan 7-50 °C, med optimal temperatur för tillväxt på 37 °C. Bakterien dör vid upphettning, men överlever i kyla och vid frysning under lång tid (Adams & Moss, 2000). Förekomst av *E. coli* i vatten, livsmedel eller foderprodukter indikerar fekal förorening (Montville & Matthews, 2005). De flesta stammar av *E. coli* tillhör normalfloran, men kan dock orsaka opportunistiska infektioner. Det finns även patogena stammar som kan ge upphov till sjukdom så som diarré och sepsis på unga djur, samt ödemsjuka och avvänjningsdiarré hos unga grisar (Quinn *et al.*, 2011). De patogena stammarna klassificeras utifrån deras virulensfaktorer. De viktigaste stammarna som kan ge upphov till gastroenterit är; enteropatogena *E. coli* (EPEC), enteroinvasiva *E. coli* (EIEC), enterotoxiska *E. coli* (ETEC) och enterohemorrhagiska *E. coli* (EHEC) även kallad Verotoxin producerande *E. coli* (VTEC) (Adams & Moss, 2000).

Idisslare och framför allt nötkreatur kan vara asymtomatiska bärare av EHEC (Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), 2016). EHEC är en zoonos som kan smitta människor direkt via kontakt med djur eller deras avföring eller indirekt via kontaminerat livsmedel eller vatten. Den mest förekommande serotypen är O157:H7 (BIOHAZ, 2013) och ungefär tre procent av svenska nötkreatur har uppskattats vara bärare (Boqvist *et al.*, 2009). På människa kan EHEC ge upphov till blodig diarré, hemolytiskt uremiskt syndrom och trombocytopeni (BIOHAZ, 2013). Sjukdom med EHEC på människor är anmälningspliktig enligt Smittskyddslagen (2004:168).

Salmonella

Salmonella spp. förekommer i mag-tarmkanalen på däggdjur, fåglar och reptiler. Via avföring kan bakterien hamna i miljön. *Salmonella* spp. är en rörlig, fakultativt anaerob bakterie (Quinn *et al.*, 2011). Den är värmekänslig, men kan växa i temperaturer från 5-47 °C. I fryst tillstånd minskar antalet bakterier över tid, om än långsamt (Adams & Moss, 2000). Genus *Salmonella* spp. ingår i familjen *Enterobacteriaceae* och det finns mer än 2 500 serotyper. De delas in i tre arter där de i veterinärmedicinsk synpunkt viktigaste serotyperna hittas inom arten *Salmonella enterica* och underarten *Salmonella enterica* subspecies *enterica*. Vissa av dessa serotyper är värdspecifika, medan andra kan infektera många djurarter. På djur varierar sjukdomens allvarlighetsgrad från subklinisk till fatal och smitta överförs framför allt fekalt-oralt (Quinn *et al.*, 2011).

Människor smittas oftast av *Salmonella* spp. via kontaminerade livsmedel, men smitta kan även ske direkt via kontakt med djur eller andra infekterade människor. Sjukdom orsakad av *Salmonella* spp. artar sig oftast som en akut gastroenterit (Folkhälsomyndigheten, 2016c). De vanligaste serotyperna att isolera vid sjukdom hos människa i Sverige och övriga Europa är *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis och *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium var. monofasisk (European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease

Prevention and Control (ECDC), 2016; Folkhälsomyndigheten, 2016c). Förekomsten av *Salmonella* spp. är noga kontrollerat via Salmonella - kontrollprogrammet, med syftet att livsmedel med animaliskt ursprung ska vara fria från *Salmonella* spp. Därför kontrolleras nöt, svin, fjäderfä, kött, ägg och djurfoder. Sjukdomsläget i landet övervakas med hjälp av provtagningar i besättningar, på slakterier, i styckningsanläggningar och vid kliniskt misstänkta fall (Jordbruksverket (SJV), 2007). Förekomst av *Salmonella* spp. på djur och människor är anmälningspliktiga enligt Zoonoslagen (1999:658) respektive Smittskyddslagen (2004:168).

Enligt statistik från 2016 har *Salmonella* spp. påvisats i nio svenska nötkreatursbesättningar. Vid provtagning av lymfknotor på slakterier av nöt och gris påvisades *Salmonella* spp. i 0,11 % respektive < 0,1 % av proven. Av de svabbprov som analyserats visade resultatet endast två positiva prov, båda från slaktkroppar av gris. Gällande sällskapsdjur påvisades *Salmonella* spp. hos 489 katter och sex hundar efter provtagning på misstänkt smittade djur. I djurfoder och foderprodukter med animalieursprung återfanns endast ett positivt prov av totalt 1 264 prover (SVA, 2016). Hos människa rapporterades under samma år 2 246 fall där cirka 70 % bedöms ha infekterats utomlands (Folkhälsomyndigheten, 2016c).

Campylobacter

Campylobacter spp. är en Gramnegativ, spiralformad, rörlig stav. Bakterien finns normalt i mag- tarmkanalen hos framför allt fåglar, men även hos animalieproducerande djur och sällskapsdjur. Bakterien kräver mikroaerofil atmosfär för att kunna växa (Quinn *et al.*, 2011). *Campylobacter* spp. växer vid ett optimum på 37°C. Vissa stammar, så som *Campylobacter jejuni* och *Campylobacter coli*, är termotoleranta och kan växa i upp till 42-45°C. Bakterien kan överleva länge i kyla och vid frysning. Den är dock känslig för rumstemperatur och dör vid upphettning, den är även känslig för uttorkning (Adams & Moss, 2000). I genus *Campylobacter* finns i dagsläget 29 species, där fem av dessa vidare delats in i elva subspecies (Parte, 2017). De species som anses patogena för djur är *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* och *C. jejuni* subsp. *jejuni*. Hos infekterade djur ses oftast enterit eller infertilitet och abort (Quinn *et al.*, 2011). Fall av *C. fetus* subsp. *venerealis* hos nötkreatur, påvisande av termotoleranta *Campylobacter* spp. hos kyckling och fall av campylobacterios på människa är anmälningspliktigt enligt svensk lagstiftning (SJVFS 2013:23; SFS 2004:168).

Olika djurarter har visat sig vara bärare av olika subtyper av *Campylobacter* spp. *C. coli* påvisas framför allt hos grisar, medan *C. jejuni* oftast förekommer hos kyckling (Workman *et al.*, 2005). Hos hundar är *Campylobacter upsaliensis* mest förekommande, men även *C. jejuni* (Hald *et al.*, 2004; Workman *et al.*, 2005; Olkkola *et al.*, 2015). Katter är oftast koloniserade av *C. upsaliensis* och *Campylobacter helveticus* (Workman *et al.*, 2005). *Campylobacter* spp. hos hund är framför allt förknippat med asymtomatiska bärare (Hald *et al.*, 2004; Workman *et al.*, 2005). Svenska hundar har undersökts för att kartlägga deras roll som reservoar för gällande *Campylobacter* spp. Bakterien påvisades hos 37 % respektive 56 % av de provtagna hundarna och de vanligaste stammarna var *C. upsaliensis* och *C. jejuni* (Engvall *et al.*, 2003; Holmberg *et al.*, 2015). En tydlig åldersskillnad har setts i flertalet studier gällande förekomsten av *Campylobacter* spp., där unga hundar i större utsträckning utsöndrar bakterien i sin avföring

(Engvall *et al.*, 2003; Workman *et al.*, 2005; Procter *et al.*, 2014; Holmberg *et al.*, 2015). Hundar upp till ett års ålder utvecklar oftare diarré vid kolonisation (Burnens *et al.*, 1992; Cave *et al.*, 2002). I denna ålderskategori är *C. jejuni* mer förekommande (Holmberg *et al.*, 2015) och denna subtyp har även visats signifikant kopplad till diarré (Sokolow *et al.*, 2005).

Campylobacter spp. är den vanligaste rapporterade orsaken till bakteriell magtarminfektion hos människor i Sverige (Folkhälsomyndigheten, 2016c) och infektionsdosen för människor är låg (Robinson, 1981). Enligt EFSA:s rapport (2016) orsakas de flesta humaninfektioner av *C. jejuni* och *C. coli*. Det finns dock studier som visat att även *C. upsaliensis* är en potentiell patogen för människor (Patton *et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 1989; Labarca *et al.*, 2002). Några av riskfaktorerna för att drabbas av campylobacterios är att äta eller vara i kontakt med rått kött, framför allt från fjäderfä, eller att vara i kontakt med djur (Folkhälsomyndigheten, 2017). Att ha hundvalp eller hobbyhöns har bedömts vara en riskfaktor för infektion (Tenkate & Stafford, 2001), men smittade människor kan även överföra bakterien till sin hund i liten utsträckning (Damborg *et al.*, 2004). Under 2016 rapporterades 11 021 fall av campylobacterios på människor varav cirka 60 % smittades i Sverige (Folkhälsomyndigheten, 2016a). Det är en kraftig ökning från tidigare år och är troligen orsakad av den ökning som sågs hos kyckling samma år (SVA, 2016).

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens är en stavformad, anaerob, sporbildande, Grampositiv bakterie och de flesta är motila. *Clostridium* spp. är saprofyter och finns runt omkring i miljön och i mag-tarmkanalen hos många djur, inklusive människa (Quinn *et al.*, 2011). Bakterien kan växa i temperaturer mellan 12-50°C, med optimal temperatur för tillväxt på 43-49°C (Adams & Moss, 2000). Inom genus *Clostridium* finns ungefär 180 arter och mindre än 20 är patogena. De patogena stammarna delas in i tre grupper beroende på om de producerar neurotoxin, histotoxin eller enterotoxin. *Clostridium perfringens* tillhör den grupp som producerar enterotoxin. Ytterligare indelning kan göras i grupperna A-E beroende på vilket typ av enterotoxin de producerar (Quinn *et al.*, 2011). Enterotoxinet bildas då vegetativa bakterier sporulerar. Sporerne är mycket tåliga (Adams & Moss, 2000) och kan överleva kokning under lång tid. Eftersom *C. perfringens* finns runt omkring i miljön, i damm, jord och avföring kan bakterien påvisas i råa produkter. Bakterien behöver tillgång till aminosyror för tillväxt och trivs därför bra i produkter innehållande protein (Bibek, 2001).

Studier har visat att *C. perfringens* är mer förekommande hos hundar med diarré än de med normal avföring (Stone *et al.*, 1993; Weese *et al.*, 2001) och det finns en signifikant koppling mellan diarré och *C. perfringens* enterotoxin (Weese *et al.*, 2001; Cave *et al.*, 2002; Marks *et al.*, 2002; Minamoto *et al.*, 2014). Att förekomsten av *C. perfringens* ökar vid diarré kan bero på att bakterien får chans att växa till när balansen i tarmfloran rubbas (Bell *et al.*, 2008). Eftersom både *C. perfringens* enterotoxin och dysbios har kunnat kopplas till gastrointestinal sjukdom är det fortsatt ifrågasatt om bakterien är den primära orsaken eller om den ökade mängden bakterier uppstår sekundärt (Minamoto *et al.*, 2014). På människa kan de enterotoxinbildande bakterierna ge upphov till matförgiftning och nekrotiserande enterit (Adams & Moss, 2000).

Lagstiftning

Foder ska enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 av den 28 januari 2002 om allmänna principer och krav för livsmedelslagstiftning, om inrättande av Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet och om förfaranden i frågor som gäller livsmedelssäkerhet² kunna spåras i alla led av produktionen och får inte förekomma på marknaden om de kan påverka djur eller människor negativt. Foderföretagare ska ha en utarbetad Hazard Analysis and Critical Control Points/Risikanalys och kritiska styrpunkter (HACCP) och utföra egenkontroller i enlighet med Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 av den 21 oktober 2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om upphävande av förordning (EG) nr 1774/2002 (förordning om animaliska biprodukter)³. Fodret ska provtas för att säkerställa att kraven i lagstiftningen efterlevs och att fodret inte innehåller smittsamma eller främmande ämnen (Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om foder, [2011:40]). Enligt förordningen (EU) nr 142/2011 ska stickprover tas med avseende på förekomst av *Salmonella* spp. och *Enterobacteriaceae*. Hur ofta prover tas grundas på företagets riskvärdering av potentiella faror. Jordbruksverkets rekommendation är att företagen tar foder- och miljöprover med avseende på *Salmonella* spp. minst två gånger per år⁴.

Tabell 1. Riktvärden och gränsvärden gällande färskt sällskapsdjursfoder och foder innehållande slaktbiprodukter. Tabellen bygger på information från SJVFS 2011:40 och (EU) nr 142/2011

Bakterie	Riktvärde Log CFU/g	Riktvärde Bakterier/g	Gränsvärde CFU/g	Gränsvärde Bakterier/g
Koliformer	4,7	50 000	-	-
Anaerober	3,7	5 000	-	-
<i>Salmonella</i>	0	0	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	-	2/5 prov < 1 5/5 prov < 3,7	2/5 pov < 10 5/5 prov < 5000

I Jordbruksverkets föreskrifter finns angivna riktvärden för foder innehållande animaliska foderråvaror (Tabell 1). De är riktvärden för fodrets hygieniska kvalitet. Ett högre värde ger misstanke om att det eventuellt kan vara skadligt (SJVFS, 2011:40). Dessa värden kan användas av företagen i deras riskbedömning⁵. Gränsvärden för färskt sällskapsdjursfoder gällande förekomsten av *Enterobacteriaceae* och *Salmonella* spp. återfinns i förordningen (EU) nr 142/2011 (Tabell 1). *Enterobacteriaceae* får inte överskrida 5 000 bakterier/g och max två av fem tagna prover får överstiga gränsvärdet tio bakterier per gram. Gällande *Salmonella* spp. råder nolltolerans. Produkter med påvisad *Salmonella* spp. får inte användas till foder. Överskrids gränsvärdena får fodret inte finnas tillgängligt till försäljning. Källan till smittan ska identifieras och elimineras (SJVFS, 2011:40).

² EUT L 31, 1.2.2002 s. 10-11, Celex:32002R0178.

³ EUT L 300, 14.11.2009, s. 24, Celex: 32009R1069.

⁴ Madeleine Johansson, Jordbruksverket, 2017-11-17

⁵ Madeleine Johansson, Jordbruksverket, 2017-11-17

Förutom företagens egenkontroller utförs offentliga kontroller på anläggningar som hanterar foder och animaliska biprodukter, där Jordbruksverket är ansvarig myndighet (Förordning om foder och animaliska biprodukter [2006:814]). Vid dessa kontroller ska företagen kunna redogöra för sin riskbedömning och visa att de har en riskbaserad produktion⁶. Hur ofta offentlig kontroll utförs bestäms av risk- och erfarenhetsklass i enlighet med Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om offentlig kontroll av foder och animaliska biprodukter (2007:21). Anläggningar som har hand om animaliska biprodukter och foder klassificeras i riskklasser mellan 1-5. De som tillverkar färskt sällskapsdjursfoder har den högsta riskklassen, riskklass 1.

MATERIAL OCH METODER

Trettio olika förpackningar med färskfoder köptes från sju olika butiker tillgängliga i Uppsala- och Stockholmsregionen under perioden mars till september 2016. Nio prover köptes vid ett tillfälle i mars och resterande prover vid fyra olika tillfällen under september månad. Inklusionskriterierna var att det skulle vara färskt fruset foder, som inte genomgått någon process innan frysning, så som torkning eller värmebehandling. En av ingredienserna skulle vara kött och/eller slaktbiprodukter från idisslare och fodret skulle vara avsett för hundar. Färskfoder innehållande kött eller slaktbiprodukter från fjäderfä exkluderades, samt foder som endast kunde köpas i mycket stora volymer. De 30 proverna inhandlades i butik och transporterades i medföljande påse och förvarades sedan i frys med en temperatur på -24 °C. Fodret tinades i kylskåp + 8 °C i 43-48 timmar innan analyserna påbörjades. Analyserna genomfördes enligt de standardiserade metoderna Nordisk Metodkommitté för Livsmedel (NMKL) och International Organization for Standardization (ISO). De utfördes vid Enheten för bakteriologi & livsmedelssäkerhet, på Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU).

Analysmetoder

Enterobacteriaceae

Analysen för *Enterobacteriaceae* utfördes enligt NMKL 144, där 25 g prov vägdes upp och 225 ml Buffrat peptonvatten (BPV) tillsattes. Allt homogeniserades med hjälp av en stomacher. Därefter gjordes en tiostegs spädningsserie 1-4 och 1 ml av respektive spädning djupspreddes i 10-15 ml Violettrött gallglukosagar (VRGG) och lämnades att stelna. Ytterligare 5 ml VRGG tillsattes och efter att agarn stelnat inkuberades plattorna i 37 °C i 21-27 timmar. Vid avläsning bedömdes skära till röda kolonier med eller utan precipitationszon som *Enterobacteriaceae* och bakterieräkning utfördes företrädesvis på plattor med 15-150 kolonier. Fem kolonier som preliminärt bedömts som *Enterobacteriaceae* renodlades på blodagar och inkuberades i 37 °C i 21-27 timmar.

Kolonierna verifierades med oxidastest. Oxidasnegativa kolonier med olika utseende, 1-3 kolonier per platta, typades med hjälp av Matrix – Assisted Laser Desorption/Ionization Time

⁶ Madeleine Johansson, Jordbruksverket, 2017-11-17

Of Flight Mass Spectrometry (Maldi-Tof). Det logaritmiska värdet beräknades för mängden bakterier och redovisades i Colony Forming Units (CFU) per gram foder.

Salmonella

Analys avseende förekomst av *Salmonella* spp. utfördes enligt NMKL 187. Preatrikning av 25 g prov i 225 ml BPV inkuberades i 37°C i 16-20 timmar, efter homogenisering i en stomacher. Efter inkubering överfördes 100 µl av preanrikningen till tre punkter på halvfast Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis agar (MSRV) vilken inkuberades i 41,5°C i 21-27 timmar. Provet bedömdes som misstänkt *Salmonella* spp. om opak zon bildats kring de tre punkterna på agarn. Om opak zon inte hade bildats efter ett dygn inkuberades provet i ytterligare 24 timmar.

Provmaterial från misstänkt *Salmonella* spp. på MSRV överfördes från yttre kanten av den opaka zonen till Xylos lysindeoxycholatar (XLD) och Brilliant grönagar (BG). Plattorna inkuberades i 37°C i 21-27 timmar. Provet bedömdes som misstänkt *Salmonella* spp. vid växt av rosa kolonier med svart centrum och ett färgomslag på XLD till rosa. Samma bedömning gjordes på BG vid växt av rosa kolonier med färgomslag till rosa. Vid misstänkt växt av *Salmonella* spp. på XLD och/eller BG renodlades fem misstänkta kolonier på blåagar med laktos och inkuberades i 37°C i 21-27 timmar.

Kolonierna verifierades med hjälp av Maldi-Tof. Vid resultat *Salmonella* spp. renodlades den misstänkta kolonin på blåagar. Dessa skickades till SVA för konfirmering och typning. Resultatet redovisades som påvisat eller ej påvisat i 25 g prov.

Campylobacter

Analysen utfördes enligt ISO 10272. Provmaterial vägdes upp till en mängd av 25 g och anrikades i 100 ml Prestonbuljong. Blandningen homogeniserades med hjälp av en stomacher och inkuberades i 41,5°C i 21-27 timmar. Efter inkubering överfördes 2 x 10 µl av anrikningsbuljongen till modified Charcoal-Cefoperazone Deoxycholate Agar (mCCDA) och inkuberades i 41,5°C i 44-52 timmar. Såväl anrikning som selektiv agar inkuberades i mikroaerofil atmosfär med hjälp av CampyGenTM (Thermo Scientific, Basingstoke, Hampshire, Storbritannien) i anaerobklocka. I varje klocka inkluderades en agarplatta med positiv kontroll för att säkerställa att inkubering gjorts i mikroaerofil atmosfär.

Misstänkta *Campylobacter* spp. undersöktes i faskontrastmikroskop, små, böjda, rörliga stavar bedömdes preliminärt som *Campylobacter* spp. Dessa renodlades på blodagar och inkuberades i 41,5°C i 21-27 timmar i mikroaerofil atmosfär. Misstänkta kolonier typades med Maldi-Tof och resultatet redovisades som påvisat eller ej påvisat i 25 g prov.

Clostridium perfringens

Analyserna utfördes enligt NMKL 56. BPV uppmättes till 225 ml och tillsattes till 25 g provmaterial, vilket homogeniserades med hjälp av en stomacher. Där efter gjordes en tiostegs spädningsserie. Ett tunt lager av cirka 5 ml Tryptos Sulfite Cyclic agar (TSC) hälldes i botten av en petriskål. När agarn stelnat pipetterades 1 ml av respektive spädning ut på agarn och djupspreddes i cirka 15 ml TSC. Provet blandades och lämnades att stelna.

Plattorna inkuberades i anaerob miljö med hjälp av AnaeroGen™ (Thermo Scientific, Basingstoke, Hampshire, Storbritannien) i 21-27 timmar. Svarta kolonier med opak zon bedömdes preliminärt som *C. perfringens* och kvantifiering gjordes företrädesvis från plattor med 10-100 kolonier.

Fem misstänkta kolonier renodlades på blodagar och inkuberades anaerobt i 37°C i 21-27 timmar. Kolonier med typisk dubbelhemolys typades med Maldi-Tof. Det logaritmiska värdet beräknades för mängden bakterier och redovisades i CFU/g foder.

Maldi-Tof

Typning av de framväxta bakteriestammarna i respektive analys gjordes med hjälp av Maldi-Tof (BRUKER, Bremen, Tyskland) som skapar ett massspektrum genom att, med UV-ljus, fragmentera och jonisera molekyler och sedan mäta tiden det tar för dessa fragment att nå en detektor. Massspektrumet jämförs sedan mot en referensdatabas med kända bakteriers massspektrum och ett värde mellan noll och tre erhålls. Det erhållna värdet, score-värdet, visar hur väl bakteriens proteinspektrum stämmer överens med referensspektrum från en känd bakterie och bakterien i det aktuella provet identifieras (SLU, 2016).

En liten mängd biologiskt material från en koloni överfördes till två spottar på analysplattan med hjälp av en tandpetare. En mängd av 250 µl av så kallad Organic solution (OS) bestående av ultrarenat vatten, Acetonitril och Trifluorättiksyra tillsattes till HCCA-matrix och blandades med hjälp av en Vortex Mixer tills matrixet lösts upp. På respektive spott droppades 1 µl av matrixet och lämnades att torka i rumstemperatur. Plattan placerades sedan i maskinen och analysen påbörjades. För att resultatet skulle bedömas som tillförlitligt krävdes att minst en av de totalt två spottarna för respektive prov uppnått ett score-värde på minst 2.0.

RESULTAT

Totalt ingick 30 förpackningar med fryst färskfoder i studien. De tillgängliga fodertillverkarna hade flera olika typer av foder som matchade inklusionskriterierna, vilket medförde att flera förpackningar från samma tillverkare köptes vid samma tillfälle. I de fall där samma typ av foder från en fodertillverkare köptes två gånger, gjordes det med sex månaders mellanrum, för att undvika att analysera prover från samma parti. Totalt köptes foder från nio olika tillverkare, här kallade A-I (Tabell 2).

Majoriteten av proven innehöll svenska råvaror, 14 av 30 prov (46,7 %). Fem prov (16,7 %) hade ursprung från Norge respektive Storbritannien (16,7 %) och tre prov (10 %) från Finland. Tre prov (10 %) var enligt uppgift från Sverige alternativt Tyskland. Innehållet i fodren varierade med avseende på proteinkälla (Tabell 2) och vilka animaliska biprodukter som inkluderats. Flest antal prov innehöll kött, puts och inälvor. Andra prov innehöll endast kött och puts eller enbart inälvor. Samtliga proteinkällor som förekom i foderproven var i fallande ordning; nöt, lamm, gris, ren och lax. Tillägg av andra ingredienser så som grönsaker, fibrer och mineraler fanns i 13 av 30 (43 %) foderprov.

Enterobacteriaceae

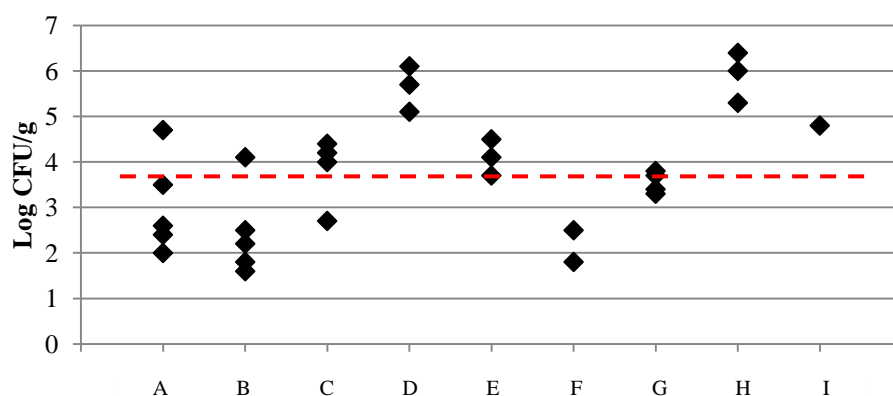
Enterobacteriaceae påvisades i samtliga prov (Tabell 3). Antalet varierade från log 1,6 CFU/gram till log 6,4 CFU/gram, med ett medelvärde på log 3,8 CFU/gram (Figur 1). De mest förekommande bakterierna var i fallande ordning *Hafnia* spp., *E. coli*, *Serratia* spp. och *Citrobacter* spp.

Salmonella

Salmonella spp. påvisades i tre prov (10 %) (Tabell 3), vilka samtliga innehöll slaktbiprodukter från nötkreatur. Från tillverkare H, med råvaror som enligt uppgift var från Tyskland, påvisades serotyperna *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Rissen och *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium var. monofasisk. Det positiva provet från tillverkare D, som enligt uppgift hade svenskt råvaruursprung, typades till *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Leeuwarden

Tabell 2. Ursprungsland, antal prov och fördelning av proteinkälla för respektive tillverkare

Tillverkare	Ursprungsland	Antal prov	Nöt	Lamm	Fler proteinkällor
A	Norge	5	3	2	0
B	Storbritannien	5	3	0	2
C	Sverige	4	2	2	0
D	Sverige	3	2	1	0
E	Finland	3	0	0	3
F	Sverige	2	1	0	1
G	Sverige	4	4	0	0
H	Tyskland/Sverige	3	2	1	0
I	Sverige	1	1	0	0
Totalt		30	18	6	6



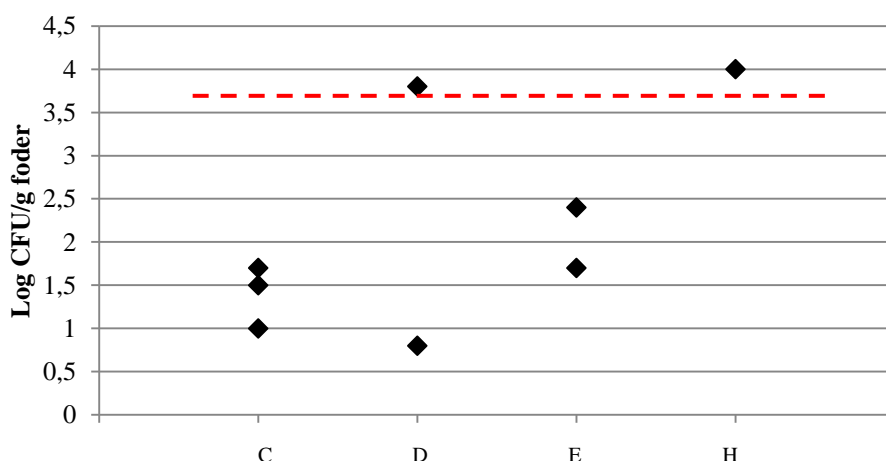
Figur 1. Provresultat för samtliga analyser av *Enterobacteriaceae* fördelat på respektive tillverkare A-I. Den streckade linjen visar det lagstiftade gränsvärdet för *Enterobacteriaceae* som återfinns i (EU) nr 142/2011.

Campylobacter

Campylobacter spp. påvisades i ett prov (3 %) (Tabell 3) och identifierades som *C. coli*. Det positiva foderprovet var från tillverkare E, med råvaror från Finland, och innehöll slaktbiprodukter från gris och nöt.

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens påvisades i åtta prov (27 %) (Tabell 3). Mängden bakterier varierade från log 0,8 CFU/gram till 4,0 CFU/gram, med ett medelvärde på log 2,1 CFU/gram (Figur 2). I resterande 22 prov var mängden under detektionsgränsen. De åtta prov där *C. perfringens* identifierades var från de fyra tillverkarna C, D, E och H med ursprung från Tyskland, Finland och Sverige. 5/8 prov positiva för *C. perfringens* innehöll nöt som proteinkälla, ett prov lamm och två prov innehöll mer än en proteinkälla.



Figur 2. Resultat för respektive prov där *C. perfringens* kunde kvantifieras, fördelat på respektive tillverkare. Den streckade linjen visar det riktvärde som återfinns i lagstiftningen SJVFS 2011:40 gällande totalantal anaerober.

Tabell 3. Antal positiva prov för respektive analys, fördelat på tillverkare

Tillverkare	Totalt antal prov	<i>Enterobacteriaceae</i> Antal prov	<i>Salmonella</i> Antal prov	<i>Campylobacter</i> Antal prov	<i>C.perfringens</i> Antal prov
A	5	5	0	0	0
B	5	5	0	0	0
C	4	4	0	0	3
D	3	3	1	0	2
E	3	3	0	1	2
F	2	2	0	0	0
G	4	4	0	0	0
H	3	3	2	0	1
I	1	1	0	0	0
Totalt	30	30	3	1	8

DISKUSSION

Clostridium perfringens och bakterier inom familjen *Enterobacteriaceae* är av intresse, dels som indikation på fodrens hygieniska kvalitet, men även för att de kan orsaka sjukdom hos både människor och djur. *Campylobacter* spp. och *Salmonella* spp. är också intressanta eftersom de är två viktiga zoonotiska bakterier. I denna studie exkluderades foder som innehöll kött och slaktbiprodukter från fjäderfä. Tidigare studier har visat att foder innehållande fjäderfä som proteinkälla har en större risk att innehålla *Campylobacter* spp. (Bojanić *et al.*, 2017) och *Salmonella* spp. (Finley *et al.*, 2008). Kycklingkött innehåller även i större utsträckning ESBL-bildande *E. coli* (Egervärn *et al.*, 2014). Hypotesen blev följaktligen att den mikrobiologiska risken i foder analyserade i denna studie skulle vara lägre än tidigare studier där foder innehållande fjäderfä inkluderats.

Enterobacteriaceae

Eftersom djur normalt bär på dessa bakterier och inget steg i produktionen utförts för att eliminera dessa, var det förväntat att bakterier från denna familj återfanns i samtliga prov. Tidigare studier som hittats i ämnet, inom ramen av den aktuella undersökningen, har inte analyserat för *Enterobacteriaceae* som grupp. Resultatet i denna studie, i förhållande till de riktvärden och gränsvärden som återfinns i lagstiftningen (Tabell 1), skulle innebära att totalt sju prov från tre tillverkare överstiger riktvärdet gällande koliformer. Samtliga prov överstiger det lägre gränsvärdet på tio bakterier per gram foder. Alla tillverkare, förutom en, har minst ett värde som överstiger det övre gränsvärdet. Totalt 15 prov (50 %) och medelvärdet för studiens samtliga analyser för *Enterobacteriaceae* är högre än det övre gränsvärdet (Figur 1). De stammar inom familjen *Enterobacteriaceae* som var mest förekommande i foderproven i denna studie tillhör apatogena stammar eller opportunist, förutom *E. coli* som även kan vara patogen. En tidigare studie på svenskt färskfoder identifierade *E. coli* i samtliga prov (Nilsson, 2015). Andra studier har påvisat en förekomst av *E. coli* på omkring 60 % (Weese *et al.*, 2005; Strohmeyer *et al.*, 2006). I en studie isolerades STEC, ingen av dessa var dock stammen O157:H7 (Nemser *et al.*, 2014). Huruvida de stammar av *E. coli* som påvisades i denna studie var patogena undersöktes inte.

Salmonella

Förekomsten av *Salmonella* spp. i Sverige är låg och strikt kontrollerat via *Salmonella* kontrollprogrammet. Därför förväntades en låg förekomst av *Salmonella* spp. i de analyserade proverna. Resultatet visade dock att 10 % var positiva för *Salmonella* spp. I studier av färskfoder utförda i USA och Canada konstaterades en förekomst av *Salmonella* spp. på 7-21 % (Weese *et al.*, 2001; Strohmeyer *et al.*, 2006; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014). Liknande studie utförd i Finland på färskfoder med finskt råvaruursprung påvisade *Salmonella* spp. i 2 % av proven (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). Förekomsten av *Salmonella* spp. hos nöt och gris vid provtagning på slakteri är låg i Sverige, Finland och Norge, medan förekomsten är högre i Tyskland (EFSA & ECDC, 2016). Eftersom två av de positiva proven innehöll råvaror som enligt uppgift var från Tyskland, kan det förklara att resultatet i denna studie var förvånansvärt högt. I dessa två prov identifierades stammarna *S. Rissen* och monofasisk *S. Typhimurium*. Monofasisk *S. Typhimurium*, *S. Derby* och *S. Typhimurium* är de stammar som framför allt hittas hos gris, men även *S. Rissen* har hittats.

Hos nötkreatur påvisas framför allt *S. Typhimurium* och *S. Dublin* (EFSA & ECDC, 2016). Förutom det tyska råvaruursprunget kan man spekulera i om källan även kan vara något annat än just slaktbiprodukterna. *Salmonella* spp. har en tendens att kunna etablera sig i miljöer, såsom lokaler för produktion av livsmedel och foder. Det innebär att de ursprungliga råvarorna inte behöver varit kontaminerade med *Salmonella* spp., utan kan ha blivit kontaminerade i foderfabriken. Det som talar för det antagandet är att i foder med slaktbiprodukter från nötkreatur identifieras stammar som framför allt förekommer hos gris. I foder till livsmedelsproducerande djur är en känd källa för *Salmonella* spp. importerat sojaprotein (EFSA & ECDC, 2016). I det aktuella fallet kan tänkas att de övriga ingredienserna som ingick i vissa foder så som alger, grönsaker, mineraler och örter också kan utgöra en risk. Då *Salmonella* spp. enligt lagstiftning inte får förekomma i djurfoder anmäldes de tre positiva proven till Jordbruksverket.

En annan svensk studie har analyserat färskfoder innehållande kött och slaktbiprodukter från fjäderfä. Data från denna studie visar mycket likvärdiga resultat, med resultatet i den aktuella studien (Staaf Hästö, 2018). I studien av Staaf Hästö (2018) påvisades *Salmonella* spp. i 3 % i jämförelse med 10 % i den aktuella studien. Det indikerar att proteinkällan inte är den enda påverkande faktorn, som hypotesen antydde.

Resistens

Undersökning av resistenta gener hos bakterier inom familjen *Enterobacteriaceae* ingick inte i denna studie. I tidigare nämnda svenska studie identifierades resistensgener i 23 % av proven, alla innehållande slaktbiprodukter från fjäderfä (Nilsson, 2015). Resistenta stammar av *Salmonella* spp. har också hittats i färskfoder (Finley *et al.*, 2008). En riskfaktor för att en hund ska bli bärare av resistenta bakterier tillhörande *Enterobacteriaceae* är att utfodra sin hund med rått kött (Baede *et al.*, 2015; Naziri *et al.*, 2016; Wedley *et al.*, 2017), en hemlagad diet eller färskfoder (Leonard *et al.*, 2011). Under åren 2000-2016 har cirka 50 % av provtagna stammar på lantbrukets djur i Sverige identifierats som *S. Typhimurium*. Av dessa har 11 % visat sig vara multiresistenta. Fall av monofasisk *S. Typhimurium* har tidigare påvisats i Sverige (Swedres-Swarm, 2016). Benägenheten att bära på resistens inom genus *Salmonella* spp. varierar mellan olika serotyper. *S. Rissen* har i hög utsträckning uppvisat multiresistens, så även monofasisk *S. Typhimurium* (EFSA & ECDC, 2016). Det kan därför inte uteslutas att analyserade prov i den aktuella studien kan ha innehållit antibiotikaresistenta bakterier.

Campylobacter

Campylobacter spp. är känslig för frysning och förekommer i högre grad i kycklingprodukter, därför förväntades förekomsten vara låg. *Campylobacter* spp. återfanns i ett prov i den aktuella studien (3 %). Det låga antalet var förväntat och i enlighet med hypotesen. *Campylobacter*-isolatet i det aktuella provet typades till *C. coli*. Enligt litteraturen förekommer *C. coli* framför allt hos gris (EFSA & ECDC, 2016), som var en av ingredienserna i provet. Hos levande djur är *Campylobacter* spp. framför allt förekommande hos gris, medan bakterien i animaliska råvaror framför allt är ett problem i kycklingkött (EFSA & ECDC, 2016). Så väl fjäderfäkött, som kött från gris och nötkreatur, kan kontamineras av *Campylobacter* spp. under slakt om det levande djuret bär på organismen i

sin tarm (Lindblad *et al.*, 2006). Eftersom vatten används i större utsträckning vid slakt av fjäderfä jämfört med slakt av nötkreatur och svin, överlever *Campylobacter* spp. på ytan av fjäderfäkött i mycket högre grad. Det är också av intresse att nämna att råvarorna i det positiva provet hade ursprung i Finland. I studier utförda i Finland och Nya Zeeland påvisades *Campylobacter* spp. i 15 % respektive 28 % av de analyserade färskfoderproverna (Bojanić *et al.*, 2017; Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). Det ska dock tilläggas att prevalensen av *Campylobacter* spp. hos slaktkyckling, där provtagning med avseende på bakterien utförs rutinmässigt, är högre i Sverige än i Finland (EFSA & ECDC, 2016). Eftersom hundar kan vara asymtomatiska bärare och på så vis vara en risk för människor kan *Campylobacter* spp. utgöra en risk även om förekomsten i denna studie var låg, framför allt med tanke på den låga infektionsdosen.

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens kunde kvantifieras i åtta prov (27 %) i denna studie. Det överensstämmer med resultat från andra studier där bakterien återfanns i 20 % av proverna (Weese *et al.*, 2005). En liten mängd kan förväntas med tanke på att det är råvaror i fodret med animaliskt ursprung. Endast ett fåtal arter är patogena och kan ge upphov till sjukdom. Därför är det svårt att uttala sig om huruvida mängden av dessa bakterier i fodret leder till sjukdom. Men ett högt antal kan utgöra en risk och man har kunnat se en koppling till gastroenterit på hund (Stone *et al.*, 1993; Weese *et al.*, 2001). I svensk lagstiftning återfinns riktvärde gällande anaerober (Tabell 1). Endast två prov från två olika tillverkare uppvisade värden som översteg riktvärdet (Figur 2). I majoriteten av proven analyserade i studien var mängden *C. perfringens* under detektionsgränsen. Att *C. perfringens* skulle utgöra en risk bedöms som mindre troligt. Det med tanke på resultatet i denna studie, då endast två prov uppvisade värden som överskred riktvärdet. Det ska dock noteras att de två foderproven med hög mängd *C. perfringens* även var två, av de totalt tre, prov där *Salmonella* spp. påvisades.

Riskbaserad hantering

Med resultatet av denna studie i åtanke är det av stor vikt att hantera färskfodret med förnuft. Då hundar i de flesta fall ej blir sjuka, men kan vara bärare av dessa bakterier, är det framför allt ur zoonotisk synpunkt viktigt att hålla god hygien vid hantering av dessa produkter. Fodret bör inte stå framme i rumstemperatur då bakterierna kan få chans att växa till. Av samma anledning bör tining ske i max 10 °C (Richter & al-Sheddy, 1990). Fodret bör hållas separat från livsmedel och hanteras med separat köksutrustning, alternativt att utrustningen diskas noga efter användning. Det är en fördel att ha en matskål till sin hund som går att diska noggrant. Med tanke på att bakterierna är enteriska och utsöndras med avföringen är det även viktigt att hantera denna på ett hygieniskt sätt. Med tanke på resistensproblematiken bör man undvika att ge färskfoder till hundar som står på antibiotikabehandling eftersom det ökar risken att resistenta stammar kan selekteras fram. Att ge färskfoder till hundar i familjer med spädbarn, äldre personer eller immunosupprimerade, bör också undvikas eftersom de är mer infektionskänsliga.

Ett sätt att nå ut med denna information till djurägare och öka deras medvetenhet är att det står råd för användning av fodret på förpackningen. Information som var vanligt förekommande var "Kategori 3, ej avsett att användas som livsmedel", "Får endast

användas till sällskapsdjur”. På ett fåtal av foderproven fanns en bruksanvisning att läsa på förpackningen. Det här kan vara ett förslag till förbättring, med belysta risker i åtanke. En avvikelse som uppmärksammades gällande informationen på foderförpackningarna var att på ett antal förpackningar var märkning gällande tillverknings-datum, bäst före-datum och partinummer otydlig och svår att läsa. Det går emot lagstiftningen eftersom produkter enligt (EG) nr 178/2002 ska vara spårbara i alla led i kedjan. Det kan även skapa problem om fodret visar sig innehålla *Salmonella* spp. eller andra anmälningspliktiga bakterier.

Begränsningar

Då endast 30 prov analyserades i denna studie går det inte att dra några slutsatser utifrån resultatet gällande riskfaktorer och vad som påverkar bakterieantal och typ av bakterier. Dock kan man utifrån tillgänglig bakgrundsfakta resonera kring eventuella risker och påverkande faktorer så som: ursprungsland, tillverkare, typ av animaliskt protein, övriga ingredienser och säsong för tillverkning. Mer forskning är nödvändig i ämnet, dels för att utvärdera riskfaktorer för att i framtiden kunna minska riskerna och öka säkerheten med denna typ av utfodring, men även för att jämföra olika typer av foder. På så vis kan för- och nackdelar med olika utfodringsregimer belysas ytterligare. Den här typen av jämförande studier har dock gjorts i andra länder. Det har då setts en tydlig skillnad, där bakterier i större utsträckning identifierats i färskfoder (Joffe & Schlesinger, 2002; Strohmeyer *et al.*, 2006; Mehlenbacher *et al.*, 2012; Nemser *et al.*, 2014). I den här studien har ett antal bakterier valts ut. Dessa är dock inte de enda bakterier som kan misstänkas förekomma i råa produkter med animaliskt ursprung. Andra studier har även påvisat bakterierna *Clostridium difficile* (Weese *et al.*, 2005), *Listeria* spp. (Nemser *et al.*, 2014) och *Yersinia* spp. (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2017). I studier som undersökt förekomst av parasiter har *Cryptosporidium* kunnat påvisas (Strohmeyer *et al.*, 2006). Andra potentiella risker med rå föda med animaliskt ursprung kan anses vara *Giardia* spp., *Toxoplasma* spp., *Neospora* spp. och *Echinococcus* spp.

Urvalet i denna studie kan i viss mån anses vara bekvämlighetsurval, då foder som gick att hitta i butiker inom ett visst område köptes. Trots det kan urvalet ändå anses representativt eftersom ett stort antal av de tillgängliga butikerna och fodertillverkarna har ingått i studien. Däremot kan denna geografiska avgränsning innebära att det ej är direkt jämförbart om man väljer att utföra samma typ av undersökning på en annan plats i landet. På grund av den geografiska avgränsningen och att samtliga prov köptes i butik kan dock vissa tillverkare som är populära hos djurägare ha missats. Det beroende på om vissa tillverkare endast säljer sina produkter inom ett specifikt område eller enbart på internet. Genom att köpa alla foder i butik har kedjan från inhandling till färdigt resultat varit lika för alla foderprov. Fodren transporterades endast i medföljande påse och har alltså inte, i den bemärkelsen, haft en obruten kylkedja. Det genomfördes medvetet för att efterlikna de betingelser då djurägare åker till en djuraffär för att köpa mat till sin hund.

Syftet med studien var att kartlägga fodren på den svenska marknaden med avseende på bakterieförekomst. Foderprovets ursprungsland var däremot ingen inklusions- eller exklusionskriterie. På så vis är urvalet mer representativt, eftersom det är så marknaden ser ut, då allt inte är av svenskt ursprung. Samtidigt blev följden att det inte går att uttala sig om

ursprungslandet har någon betydelse och om den mikrobiologiska risken är mindre i foder med svenskt ursprung.

KONKLUSION

Studien har utförts med syftet att utvärdera några av de risker som tidigare kopplats till färskfoder, utifrån ett svenskt perspektiv. Resultatet som erhållits i denna studie överensstämmer med resultatet från tidigare studier som visat att en mikrobiologisk risk föreligger i färskfoder. Det är därför viktigt att ha god hygien vid hantering av färskfoder. Med resultatet i denna studie har de risker som tidigare kopplats till färskfoder belysts. Det är viktigt att känna till de potentiella riskerna för att förstå hur de kan minimeras. Fördelarna som sägs kunna uppnås med denna typ av utfodring förnekas inte, men vetenskapliga studier som bekräftar färskfodrets positiva effekter är begränsade. Ytterligare studier i ämnet behövs för att på så vis kunna bedöma om fördelarna överväger riskerna.

REFERENSER

- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2000). *Food Microbiology*. 2 ed. Cambridge, Storbritannien: Royal Society of Chemistry.
- Parte, A.C. (2017). *LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*. Tillgänglig: <http://www.bacterio.net/> [2017-12-10]
- Baede, V. O., Wagenaar, J. A., Broens, E. M., Duim, B., Dohmen, W., Nijse, R., Timmerman, A. J. & Hordijk, J. (2015). Longitudinal study of extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC-producing Enterobacteriaceae in household dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59:3117–3124.
- Belas, A., Salazar, A. S., Gama, L. T. da, Couto, N. & Pomba, C. (2014). Risk factors for faecal colonisation with Escherichia coli producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. *The Veterinary Record*, 175:202.
- Bell, J. A., Kopper, J. J., Turnbull, J. A., Barbu, N. I., Murphy, A. J. & Mansfield, L. S. (2008). Ecological characterization of the colonic microbiota of normal and diarrheic dogs. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2008: 149694.
- Bibek, R. (2001). *Fundamental food microbiology*. 2. ed. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Billinghurst, I. (1993). *Give your dog a bone : the practical commonsense way to feed dogs for a long healthy life*. Bathurst, N.S.W, Australia: Warrigal Publishing.
- Bojanić, K., Midwinter, A. C., Marshall, J. C., Rogers, L. E., Biggs, P. J. & Acke, E. (2017). Isolation of Campylobacter spp. from client-owned dogs and cats, and retail raw meat pet food in the Manawatu, New Zealand. *Zoonoses and Public Health*, 64:438–449.
- Boqvist, S., Aspan, A. & Eriksson, E. (2009). Prevalence of verotoxigenic Escherichia coli O157:H7 in fecal and ear samples from slaughtered cattle in Sweden. *Journal of Food Protection*, 72:1709–1712.
- Burnens, A. P., Angéloz-Wick, B. & Nicolet, J. (1992). Comparison of Campylobacter carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Journal of Veterinary Medicine*. B 39:175–180.
- Case, L. P., Daristotle, L., Hayek, M. G. & Raash, M. F. (2010). *Canine and feline nutrition : a resource for companion animal professionals*. 3. ed. St.Louis, Missouri: Elsevier.
- Cave, N. J., Marks, S. L., Kass, P. H., Melli, A. C. & Brophy, M. A. (2002). Evaluation of a routine diagnostic fecal panel for dogs with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221:52–59.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2008). Multistate outbreak of human Salmonella infections caused by contaminated dry dog food--United States, 2006-2007. *Morbidity and mortality weekly report*, 57:521–524.
- Clark, C., Cunningham, J., Ahmed, R., Woodward, D., Fonseca, K., Isaacs, S., Ellis, A., Anand, C., Ziebell, K., Muckle, A., Sockett, P. & Rodgers, F. (2001). Characterization of Salmonella associated with pig ear dog treats in Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 39:3962–3968.
- Damborg, P., Olsen, K. E. P., Møller Nielsen, E. & Guardabassi, L. (2004). Occurrence of Campylobacter jejuni in pets living with human patients infected with C. jejuni. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:1363–1364.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2011). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal*, 9(8):2322:1- 95

- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2013). Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA Journal*, 11(4):3138: 106
- Egervärn, M., Rosengren, Å., Englund, S., Börjesson, S., Löfmark, S., Ny, S. & Byfors, S. (2014). *ESBL-bildande E.coli i vår omgivning – livsmedel som spridningsväg till människa*. Uppsala/Stockholm.
- Engvall, E. O., Brändstrom, B., Andersson, L., Båverud, V., Trowald-Wigh, G. & Englund, L. (2003). Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in faecal samples from Swedish dogs. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35:713–718.
- Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 av den 28 januari 2002 om allmänna principer och krav för livsmedelslagstiftning, om inrättande av Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet och om förfaranden i frågor som gäller livsmedelssäkerhet. [(EG) nr 178/2002].
- Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 av den 21 oktober 2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om upphävande av förordning (EG) nr 1774/2002 (förordning om animaliska biprodukter). [(EG) nr 1069/2009].
- European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, 14(12): 4634: 1-231.
- Finley, R., Reid-Smith, R., Ribble, C., Popa, M., Vandermeer, M. & Aramini, J. (2008). The occurrence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. *Zoonoses and Public Health*, 55:462–469.
- Folkhälsomyndigheten. (2016a). *Campylobacterinfektion*. Tillgänglig: <http://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistikdatabaser-och-visualisering/sjukdomsstatistik/campylobacterinfektion/> [2017-12-10]
- Folkhälsomyndigheten. (2016b). *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)*. Tillgänglig: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistikdatabaser-och-visualisering/sjukdomsstatistik/extended-spectrum-beta-lactamase-esbl/> [2017-12-10]
- Folkhälsomyndigheten. (2016c). *Salmonellainfektion*. Tillgänglig: <http://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistikdatabaser-och-visualisering/sjukdomsstatistik/salmonellainfektion/> [2017-12-10]
- Folkhälsomyndigheten. (2017-02-09). *Sjukdomsinformation om campylobacterinfektion*. Tillgänglig: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/campylobacterinfektion-/> [2017-12-10]
- Fredriksson-Ahomaa, M., Heikkilä, T., Pernu, N., Kovanen, S., Hielm-Björkman, A. & Kivistö, R. (2017). Raw meat-based diets in dogs and cats. *Veterinary Sciences*, 4:33.
- Freeman, L. M., Chandler, M. L., Hamper, B. A. & Weeth, L. P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243:1549–1558.
- Freeman, L. M. & Michel, K. E. (2001). Evaluation of raw food diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218:705–709.
- Förordning om foder och animaliska biprodukter (2006:814).
- Gandolfi-Decristophoris, P., Petrini, O., Ruggeri-Bernardi, N. & Schelling, E. (2013). Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy companion animals living in nursing homes and in the community. *American Journal of Infection Control*, 41:831–835.

- Hald, B., Pedersen, K., Wainø, M., Jørgensen, J. C. & Madsen, M. (2004). Longitudinal study of the excretion patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. in young pet dogs in Denmark. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:2003–2012.
- Holmberg, M., Rosendal, T., Engvall, E. O., Ohlson, A. & Lindberg, A. (2015). Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in Swedish dogs and characterization of *C. jejuni* isolates. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57:19.
- Joffe, D. J. & Schlesinger, D. P. (2002). Preliminary assessment of the risk of *Salmonella* infection in dogs fed raw chicken diets. *The Canadian Veterinary Journal*, 43:441–442.
- Jordbruksverket (SJV). (2007). *Översyn av salmonella-kontrollprogrammet Färdplan*.
- Kommissionens förordning (EU) nr 142/2011 av den 25 februari 2011 om genomförande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om genomförande av rådets direktiv 97/78/EG vad gäller vissa prover och produkter som enligt det direktivet är undantagna från veterinärkontroller vid gränsen. [(EU) nr 142/2011].
- Labarca, J. A., Sturgeon, J., Borenstein, L., Salem, N., Harvey, S. M., Lehnkering, E., Reporter, R. & Mascola, L. (2002). *Campylobacter upsaliensis*: Another pathogen for consideration in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 34:59-60.
- Lefebvre, S. L., Reid-Smith, R., Boerlin, P. & Weese, J. S. (2008). Evaluation of the risks of shedding *Salmonellae* and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta. *Zoonoses and Public Health*, 55:470–480.
- Leonard, E. K., Pearl, D. L., Finley, R. L., Janecko, N., Peregrine, A. S., Reid-Smith, R. J. & Weese, J. S. (2011). Evaluation of pet-related management factors and the risk of *Salmonella* spp. carriage in pet dogs from volunteer households in Ontario (2005-2006). *Zoonoses and Public Health*, 58:140–149.
- Lindblad, M., Hansson, I., Vågsholm, I. & Lindqvist, R. (2006). Postchill *Campylobacter* prevalence on broiler carcasses in relation to slaughter group colonization level and chilling system. *Journal of Food Protection*, 69:495–499.
- Ljungquist, O., Ljungquist, D., Myrenås, M., Rydén, C., Finn, M. & Bengtsson, B. (2016). Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing Enterobacteriaceae between humans and dogs - a pilot study. *Infection Ecology & Epidemiology*, 6:31514.
- Marks, S. L., Kather, E. J., Kass, P. H. & Melli, A. C. (2002). Genotypic and phenotypic characterization of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in diarrheic and healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16:533–540.
- Mehlenbacher, S., Churchill, J., Olsen, K. E. & Bender, J. B. (2012). Availability, brands, labelling and *Salmonella* contamination of raw pet food in the Minneapolis/St. Paul area. *Zoonoses and Public Health*, 59:513–520.
- Minamoto, Y., Dhanani, N., Markel, M. E., Steiner, J. M. & Suchodolski, J. S. (2014). Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 174:463–473.
- Montville, T. J. & Matthews, K. R. (2005). *Food Microbiology: An Introduction*. Washington DC, USA: ASM Press.
- Morley, P. S., Strohmeyer, R. A., Tankson, J. D., Hyatt, D. R., Dargatz, D. A. & Fedorka-Cray, P. J. (2006). Evaluation of the association between feeding raw meat and *Salmonella enterica* infections at

- a Greyhound breeding facility. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228:1524–1532.
- Naziri, Z., Derakhshandeh, A., Firouzi, R., Motamedifar, M. & Shojaee Tabrizi, A. (2016). DNA fingerprinting approaches to trace *Escherichia coli* sharing between dogs and owners. *Journal of Applied Microbiology*, 120:460–468.
- Nemser, S. M., Doran, T., Grabenstein, M., McConnell, T., McGrath, T., Pamboukian, R., Smith, A. C., Achen, M., Danzeisen, G., Kim, S., Liu, Y., Robeson, S., Rosario, G., McWilliams Wilson, K. & Reimschuessel, R. (2014). Investigation of *Listeria*, *Salmonella*, and toxigenic *Escherichia coli* in various pet foods. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11:706–709.
- Nilsson, O. (2015). Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5:28758.
- Olkkola, S., Kovanen, S., Roine, J., Hänninen, M.-L., Hielm-Björkman, A. & Kivistö, R. (2015). Population genetics and antimicrobial susceptibility of canine *Campylobacter* isolates collected before and after a raw feeding experiment. *PloS One*, 10:0132660.
- Patton, C. M., Shaffer, N., Edmonds, P., Barrett, T. J., Lambert, M. A., Baker, C., Perlman, D. M. & Brenner, D. J. (1989). Human disease associated with "Campylobacter upsaliensis" (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 27:66–73.
- Pitout, J. D. D., Reisbig, M. D., Mulvey, M., Chui, L., Louie, M., Crowe, L., Church, D. L., Elsayed, S., Gregson, D., Ahmed, R., Tilley, P. & Hanson, N. D. (2003). Association between handling of pet treats and infection with *Salmonella enterica* serotype newport expressing the AmpC beta-lactamase, CMY-2. *Journal of Clinical Microbiology*, 41:4578–4582.
- Procter, T. D., Pearl, D. L., Finley, R. L., Leonard, E. K., Janecko, N., Reid-Smith, R. J., Weese, J. S., Peregrine, A. S. & Sargeant, J. M. (2014). A cross-sectional study examining *Campylobacter* and other zoonotic enteric pathogens in dogs that frequent dog parks in three cities in south-western Ontario and risk factors for shedding of *Campylobacter* spp. *Zoonoses and Public Health*, 61:208–218.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., FitzPatrick, E. S., Fanning, S. & Hartigan, P. J. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2. ed. West-Sussex: Wiley-Blackwell.
- Richter, E. R. & al-Sheddy, I. (1990). Microbiological quality and safety of zoo food. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:877–880.
- Robinson, D. A. (1981). Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *British Medical Journal*, 282:1584.
- Schultze, K. R. (2009). *Kymythy.com*. Tillgänglig: <http://www.kymythy.com/index.html> [2017-12-09]
- Schwaber, M. J. & Carmeli, Y. (2007). Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60:913–920.
- Selmi, M., Stefanelli, S., Bilei, S., Tolli, R., Bertolotti, L., Marconi, P., Giurlani, S., De Lucia, P. G., Ruggeri, G. & Pagani, A. (2011). Contaminated commercial dehydrated food as source of multiple *Salmonella* serotypes outbreak in a municipal kennel in Tuscany. *Veterinaria Italiana*, 47:183–190.
- Sokolow, S. H., Rand, C., Marks, S. L., Drazenovich, N. L., Kather, E. J. & Foley, J. E. (2005). Epidemiologic evaluation of diarrhea in dogs in an animal shelter. *American Journal of Veterinary Research*, 66:1018–1024.

- Staa Hästö, L. (2018). *Förekomst av specifika bakterier i färskfoder innehållande produkter från fjäderfä åt hund*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2018:10).
- Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om foder (2011:40), Saknr M 39.
- Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om offentlig kontroll av foder och animaliska biprodukter (2007:21).
- Stone, G. G., Chengappa, M. M., Oberst, R. D., Gabbert, N. H., McVey, S., Hennessy, K. J., Muenzenberger, M. & Staats, J. (1993). Application of polymerase chain reaction for the correlation of *Salmonella* serovars recovered from greyhound feces with their diet. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5:378–385.
- Strohmeyer, R. A., Morley, P. S., Hyatt, D. R., Dargatz, D. A., Scorza, A. V. & Lappin, M. R. (2006). Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228:537–542.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA). (2016-10-13). *Escherichia coli som zoonos*. Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/zoonoser/enterohemorragisk--ecoli-ehc> [2017-12-10]
- Sveriges lantbruksuniversitet (SLU). (2016-12-19). *VetBact*. Tillgänglig: <http://www.vetbact.org/index.php?displayextinfo=102&vbsearchstring=maldi> [2017-12-10]
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA). (2016). *Surveillance of infectious disease in animals and humans in Sweden 2016*. Uppsala. SVA:s rapportserie 45, ISSN 1654-7098.
- Swedres-Swarm (2016). *Consumption of antibiotics and occurrence of resistance in Sweden*. Solna/Uppsala. ISSN1650-6332.
- Taylor, D. E., Hiratsuka, K. & Mueller, L. (1989). Isolation and characterization of catalase-negative and catalase-weak strains of *Campylobacter* species, including "Campylobacter upsaliensis," from humans with gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 27:2042–2045.
- Tenkate, T. D. & Stafford, R. J. (2001). Risk factors for campylobacter infection in infants and young children: a matched case-control study. *Epidemiology and Infection*, 127:399–404.
- Volhard, W. (2017). *Volhard Dog Nutrition*. Tillgänglig: <https://www.volharddognutrition.com/about-us/> [2017-12-09]
- Wedley, A. L., Dawson, S., Maddox, T. W., Coyne, K. P., Pinchbeck, G. L., Clegg, P., Nuttall, T., Kirchner, M. & Williams, N. J. (2017). Carriage of antimicrobial resistant *Escherichia coli* in dogs: Prevalence, associated risk factors and molecular characteristics. *Veterinary Microbiology*, 199:23–30.
- Weese, J. S., Rousseau, J. & Arroyo, L. (2005). Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *The Canadian Veterinary Journal*, 46:513–516.
- Weese, J. S., Staempfli, H. R., Prescott, J. F., Kruth, S. A., Greenwood, S. J. & Weese, H. E. (2001). The roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in diarrhea in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15:374–378.
- Workman, S. N., Mathison, G. E. & Lavoie, M. C. (2005). Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. *Journal of Clinical Microbiology*, 43:2642–2650.